

CD38/cyclic ADP-ribose シグナル伝達系の欠損は カルシウムサイクリング関連遺伝子の発現増加と心 肥大を引き起こす

著者	橋 潤
号	1968
発行年	2003
URL	http://hdl.handle.net/10097/22460

氏 名（本籍）	たか 高	はし 橋	じゅん 潤
学 位 の 種 類	博 士 （ 医 学 ）		
学 位 記 番 号	医 博 第 1 9 6 8 号		
学位授与年月日	平 成 15 年 3 月 24 日		
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
研 究 科 専 攻	東北大学大学院医学系研究科 （博士課程）医科学専攻		
学 位 論 文 題 目	Deficiency of CD38/cyclic ADP-ribose Signaling System Elicits the Upregulation of Genes Related to Ca^{2+} Cycling and Cardiac Hypertrophy （CD38/cyclic ADP-ribose シグナル伝達系の欠損はカルシウムサイクリング関連遺伝子の発現増加と心肥大を引き起こす）		
	（主 査）		
論 文 審 査 委 員	教授 白 土 邦 男	教授 柳 澤 輝 行	
	教授 丸 山 芳 夫		

論文内容要旨

研究目的

近年数多くの *in vitro* 実験により nicotinamide adenine dinucleotide (NAD) の代謝産物である cyclic ADP-ribose (cADPR) が、生理的温度 (36°C) において心筋筋小胞体リアノジンレセプターの内因性調節因子である可能性が示唆されている。しかし cADPR が生体内の心筋細胞カルシウムサイクリングにおいて実質的に作用していることを証明した報告はない。本研究の目的は cADPR の合成酵素である CD 38 のノックアウトマウスの心筋を解析することにより、CD 38-cADPR シグナル伝達系が生体内の心筋細胞カルシウムサイクリングにおいてどのような役割を果たしているか検討することである。

研究方法

野生型マウス (wild-type) 群と CD 38 ノックアウトマウス (CD 38 KO) 群において体重、心重量、心拍数、tail-cuff method による収縮期血圧、心エコーによる左室機能、心カテーテルによる左室内圧等の諸指標の測定を行うとともに組織学的検討を行った。次いで右室乳頭筋を用いてカルシウムトランジェントと発生張力について生理学的温度 (35.6°C) と cADPR の作用が不活化すると報告されている室温 (27.2°C) において検討した。さらに両群におけるカルシウムサイクリング関連蛋白の mRNA 発現について半定量的 RT-PCR 法を用いて検討した。

研究結果

CD 38 KO 群において radioimmunoassay 法により計測した心筋の cADPR 含量は wild-type 群に比べ 85% 低下していた。心拍数、収縮期血圧、心エコー、心カテーテル等による種々の血行動態指標において両群間に差は認められなかったが、CD 38 KO 群において心重量、左室重量、左室重量・体重比、心筋細胞の幅が wild-type 群に比し有意に増加しており、心肥大がおきていることが示された。さらに両群間に生理的温度でのカルシウムトランジェント、発生張力の諸指標に差は認められなかったが、室温では CD 38 KO 群で wild-type 群に比し、カルシウムトランジェントにおいて有意に細胞内カルシウム濃度のピーク値が高く、細胞内カルシウム濃度低下の時定数が短縮していた。また CD 38 KO 群において弛緩性の指標である dF/dt_{\min} も wild-type 群に比し有意に減少しており、収縮性の指標である dF/dt_{\max} は増加している傾向にあった。半定量的 RT-PCR 法では CD 38 KO 群において wild-type 群に比べ、リアノジンレセプター、筋小胞体カルシウム ATPase type 2、ホスホランバンといったカルシウムサイクリング関連蛋白が mRNA レベルで有意に発現が増加していた。

結 論

生体内心筋において CD38-cADPR シグナル伝達系の欠損はカルシウム関連蛋白の発現増加と心肥大を引き起こした。これらは CD38 ノックアウトマウス心筋におけるカルシウム availability 低下に対する代償機転と考えられ、CD38-cADPR シグナル伝達系が生体内の心筋細胞カルシウムサイクリングの保持において恒常的に作用している事が示唆された。

研 究 の 意 義

本研究は生体内心筋カルシウムサイクリングにおいて CD38-cADPR シグナル伝達系が重要な働きを有しており、その欠損はカルシウムサイクリング関連蛋白の発現の増加と心肥大を引き起こし代償されることを示した初めての研究である。

審 査 結 果 の 要 旨

近年数多くの *in vitro* 実験により nicotinamide adenine dinucleotide の代謝産物である cyclic ADP-ribose (cADPR) が、生理的溫度 (36°C) において心筋筋小胞体リアノジンレセプターの内因性調節因子である可能性が示唆されている。しかし cADPR が生体内の心筋細胞カルシウムサイクリングにおいて実質的に作用していることを証明した報告はない。本研究では cADPR の合成酵素である CD 38 のノックアウトマウスの心筋を解析することにより、CD 38-cADPR シグナル伝達系が生体内の心筋細胞カルシウムサイクリングにおいてどのような役割を果たしているか検討している。従来の cADPR の研究とは異なり、遺伝子操作動物を用いているところが全く新しい。この結果、CD 38 ノックアウトマウス (CD 38 KO) 群において radioimmunoassay 法により測定した心筋の cADPR 含量は wild-type 群に比べ 85% 低下していた。一方、心拍数、収縮期血圧、さらには心エコー及び心臓カテーテルによって得られた血行動態諸指標において両群間に差は認められなかったが、CD 38 KO 群において心重量、左室重量、左室重量・体重比、心筋細胞の幅が wild-type 群に比し有意に増加していた。さらに両群間に生理的溫度でのカルシウムトランジェント、発生張力の諸指標に差は認められなかったが、室温 (27°C) では CD 38 KO 群で wild-type 群に比し、有意に細胞内カルシウム濃度のピーク値が高く、細胞内カルシウム濃度低下の時定数が短縮していた。また CD 38 KO 群において弛緩性の指標である $-dF/dt_{min}$ が wild-type 群に比し有意に減少しており、収縮性の指標である $+dF/dt_{max}$ は増加している傾向にあった。これらの結果は cADPR の低下のみでは説明がつかないことから、著者はさらに筋小胞体カルシウムサイクリング関連タンパクの遺伝子発現につき詳細に検討している。半定量的 RT-PCR 法では CD 38 KO 群において wild-type 群に比べ、リアノジンレセプター、筋小胞体カルシウム ATPase type 2、ホスホランバンといったカルシウムサイクリング関連蛋白が mRNA レベルで有意に発現が増加していた。以上の結果より生体内心筋における CD 38-cADPR シグナル伝達系の欠損によりカルシウム関連蛋白の発現増加と心肥大が引き起こされることが初めて明らかとなった。本申請者はこれらを CD 38 ノックアウトマウスの心筋におけるカルシウム availability 低下に対する代償機転と考え、CD 38-cADPR シグナル伝達系が生体内の心筋細胞カルシウムサイクリングの保持において恒常的に作用していると結論している。本研究は生体内心筋カルシウムサイクリングにおいて CD 38-cADPR シグナル伝達系が重要な働きを有していることを示した初めての研究であり、学位論文に十分に値するものとする。